

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL  
AKAR ENCOK (*Plumbago zeylanica* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Pseudomonas aeruginosa* SECARA IN VITRO**

**Adinda Septi Faradina, Nyoman Mastra, I Wayan Karta  
Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar  
Email: [dindafaradina03@gmail.com](mailto:dindafaradina03@gmail.com)**

**ABSTRACT**

**Background** *Pseudomonas aeruginosa* is negative gram bacteria which cause urinary tract infection. Encok root contains tannins, alkaloids, saponins, tri-terpenoids and flavonoids. **The purpose** This purpose is to observe the antibacterial activities on encok root ethanol extract with various concentrations towards *Pseudomonas aeruginosa* bacteria growth. **The Method** The type of experiment used true experiment with posttest only control group design using Kirby-Bauer diffusion discs method on five concentrations (20%, 35%, 50%, 65% and 80%), work controls (Ciprofloxacin 5µg) and negatif control (96% ethanol). **The result** showed that the average diameter of inhibition zone of encok root ethanol extract at concentration 20% (10,5 mm), 35% ( 11,7 mm), 50% (11,8 mm) 65% (12,3 mm) and 80% (15,3 mm). These five concentration have medium until strong inhibition potential. Statistic analysis with One Way Anova the value of  $p(0,000) < \alpha(0,05)$ . In Least Significant Difference test showed the significant different of inhibition zone in each extract concentration. **Conclusion** This examination showed that antibacterial activity of ethanol extract of encok root with various concentrations (20%, 35%, 50%, 65% and 80%) was difference in towards the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria.

**Keyword:** Encok roots, antibacterial activity, *Pseudomonas aeruginosa*

**PENDAHULUAN**

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif penyebab infeksi nosokomial terutama menyebabkan infeksi saluran kemih dan juga menyebabkan pneumonia karena penggunaan ventilator. Selain menyebabkan infeksi saluran kemih, *Pseudomonas aeruginosa* juga menyebabkan infeksi luka, dan infeksi saluran pernapasan bagian bawah pada

pasien dengan imunokompromis<sup>1</sup>. Penanganan yang dapat dilakukan untuk mengatasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah dengan pemberian antibiotik. Terapi antibiotik yang tidak tepat dengan diagnosis tentunya akan menimbulkan dampak negatif seperti resistensi antibiotik<sup>2</sup>.

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan adalah tanaman encok (*Plumbago zeylanica*). *Plumbago zeylanica*

merupakan salah satu tumbuhan obat multifungsi. *Plumbago zeylanica* tumbuh di hutan gugur, sabana, dan semak belukar dari permukaan laut hingga 200 meter diatas permukaan laut<sup>3</sup>. Profil Farmakologi tanaman obat *Plumbago zeylanica* L., disebutkan bahwa tanaman ini menunjukkan sejumlah besar sifat obat yaitu, sebagai anti-inflamasi, menurunkan kolesterol, menyembuhkan luka, antidiabetes, antimalaria, anti-viral, anti-kanker, antioksidan, dan antibakterial.

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah *true experimental design*<sup>5</sup>, sedangkan rancangan penelitiannya adalah *Pos test only control group design*<sup>5</sup>. Unit analisis dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol akar encok dengan konsentrasi 20%, 35%, 50%, 65%, dan 80%. Pengulangan dilakukan sebanyak empat kali dengan replikasi sekali.

Jenis data yang diperoleh adalah data primer berupa zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Teknik pengumpulan datanya adalah secara observasi dengan mengukur zona hambat menggunakan jangka sorong dengan satuan millimeter. Metodenya adalah difusi cara *Kirby-Bauer*. Analisis data menggunakan *software computer* dengan uji *Kolmogorov Smirnov* (KS) untuk mengetahui data berdistribusi

Selain itu tanaman ini juga dapat menghilangkan rasa sakit dan mampu mengobati penyakit kanker darah. Daun dan akarnya berkhasiat sebagai obat pada berbagai penyakit diantaranya daun digunakan untuk obat encok atau rematik, masuk angin, susah buang air kecil dan sakit kepala, menghilangkan rasa nyeri pada sendi, iritasi pada kulit, sakit perut, menekan menstruasi dan infeksi saluran kemih<sup>4</sup>.

normal atau tidak, Uji *Kruskal Wallis* bila data berdistribusi tidak normal dan *One Way Anova* bila berdistribusi normal. LSD (*Least Significant Deference*) untuk mengetahui perbedaan zona hambat masing-masing konsentrasi.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Laboratorium Kimia Dasar dan Laboratorium Kimia Terapan Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah blender, tabung vial, tempayan, neraca analitik, pipet ukur 1 ml dan 10, mikropipet 20µl – 1000µl, ball pipet, gelas ukur 250 ml, evaporator, beaker glass 500 ml dan 1000 ml, Erlenmeyer 250 mL dan 500 mL, tabung reaksi, rak tabung, ose, hotplate, magnetic stirer, lampu spiritus, petridish steril, biosafety cabinet, Mc Farland

densitometer, jangka sorong, inkubator, oven, autoklaf dan refrigerator.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah ekstrak biji buah pepaya, aquadest steril, Bakteri *Klebsiella pneumoniae*, media MHA, standar Mac Farland 0,5%, NaCl 0,9%, cakram kosong, cakram antibiotik *Ciprofloxacin*, kertas saring, lidi kapas steril, etanol 96%, aluminium foil, kapas, dan tabung eppendorf.

## Prosedur Kerja

### Persiapan Sampel

Akar encok yang telah dikumpulkan dibersihkan dengan cara dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 105<sup>0</sup>C selama 4 jam. Sampel yang telah kering diserbukkan dan diayak menggunakan ayakan hingga diperoleh serbuk yang halus dan seragam, selanjutnya dihitung kadar air simplisia ( syarat baku kadar air simplisia adalah < 10%).

### Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi yaitu sebanyak 100 gram serbuk simplisia akar encok dimasukkan ke dalam gelas kimia lalu direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 1000 mL, kemudian wadah ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 7 hari sambil sesekali

diaduk, lalu disaring dengan kertas saring sehingga menghasilkan filtrat dan residu. Filtrat lalu diuapkan menggunakan evaporator ( suhu 40 – 60°C ) sampai didapatkan ekstrak kental konsentrasi 100%. Ekstrak kental yang telah dihasilkan ditimbang dan disimpan dalam wadah gelas tertutup sebelum digunakan untuk pengujian.

### Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol akar encok

Pembuatan ekstrak etanol akar encok konsentrasi 20%, 35%, 50%, 65% dan 80% b/v dengan cara ditimbang 0,2 g; 0,35 g; 0,5 g, 0,65 g; dan 0,80 g ekstrak etanol akar encok kemudian masing-masing ditambahkan dalam aquades hingga volume 1 ml.

### Pembuatan suspensi bakteri

#### *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan NaCl fisiologis 0,85% sehingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc.Farland* 0,5. Dan diukur dengan *Mc Farland* densitometri.

### Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Ditimbang Bubuk MHA sebanyak 9,5 gram dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak

250 mL. Medium dipanaskan selama satu menit pada hotplate sambil diaduk sampai serbuk benar-benar larut dan tercampur dengan sempurna. Media disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan media ke dalam cawan petri 15 ml, kemudian didiamkan hingga memadat.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan kepekatan Mc Farland 0,5% disiapkan. Swab kapas dicelupkan ke suspensi dan disebar dengan cara digores-goreskan pada permukaan media MHA sampai seluruh permukaan tertutup rapat dengan goresan. Disiapkan cakram antibiotik *Ciprofloxacin* dan cakram disk kosong yang diteteskan 20µl masing-masing konsentrasi ekstrak etanol akar encok yaitu konsentrasi 20%, 35%, 50%, 65%, 80%, dan etanol 96%. Seluruh cairan meresap ke dalam cakram disk. Cakram yang telah jenuh kemudian ditempelkan pada permukaan media MHA yang telah digoreskan suspensi bakteri dan sedikit ditekan dengan pinset sampai melekat sempurna. Atur jarak cakram ±15 mm antara cakram yang lainnya. Media yang telah ditanami cakram diinkubasi di

inkubator selama 24 jam dengan posisi terbalik pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi diukur zona bening yang terbentuk dengan jangka sorong .

## HASIL

### Karakteristik Akar Encok

Objek dalam penelitian ini adalah akar encok (*Plumbago zeylanica L.*) yang diambil di daerah Nusa Penida dengan ciri-ciri panjang berkisar 5-20 cm, dan pangkal akarnya tidak disertai batang. Akar berwarna kuning kecoklatan dan ujungnya meruncing. Berat basah dari akar encok yaitu satu kilogram, setelah dikeringkan dan dihaluskan diperoleh berat simplisia 110 gram. Dari jumlah tersebut, digunakan sebanyak 100 gram simplisia yang dilarutkan dalam 1000 mL etanol 96%. Hasil pengukuran kadar air simplisia akar encok dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1  
Kadar air simplisia akar encok

Bobot simplisia (g)	Bobot cawan kosong + simplisia awal (g)	Bobot cawan + simplisia setelah pemanasan (g)	Kadar air (%)
1	41,492	42,425	7,6

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Akar Encok Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)				Rerata (mm)	Kategori kekuatan daya hambat
	I	II	III	IV		
<i>Ciprofloxacin</i>	33,5	33,5	34,0	33,5	33,6 ± 0,2	Sensitif
Etanol 96%	0	0	0	0	0 ± 0	Tidak menghambat
20%	10	11	11	10	10,5 ± 0,5	Sedang
35%	11,2	12,1	11,2	12,3	11,7 ± 0,5	Kuat
50%	12,3	11,1	11,3	12,4	11,8 ± 0,1	Kuat
65%	12,2	12,4	12,3	12,2	12,3 ± 0,1	Kuat
80%	16	15	15,3	15,1	15,3 ± 0,4	Kuat

### Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol akar encok (*Plumbago zeylanica* L.) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dianalisis statistik uji *Kolmogorov Smirnov* didapat nilai  $p(0,142) > \alpha(0,05)$  ini menunjukkan data berdistribusi normal. Dilanjutkan *One Way Anova* menunjukkan nilai  $p(0,000) < \alpha(0,05)$  sehingga ada perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol akar encok. Dalam uji *Least Significant Difference* (LSD) menunjukkan nilai  $p(0,000) < \alpha(0,05)$  yang artinya ada perbedaan zona hambat yang bermakna pada masing-masing konsentrasi ekstrak serta nilai  $p(0,000) > \alpha(0,05)$  menandakan bahwa tidak ada perbedaan bermakna yaitu pada konsentrasi 35%, 50% dan 65%.

### PEMBAHASAN

#### Diameter zona hambat pada *Ciprofloxacin*

Antibiotik *Ciprofloxacin* digunakan sebagai kontrol kerja. *Ciprofloxacin* digunakan sebagai kontrol positif sekaligus kontrol kerja atau sebagai pembanding untuk menentukan tingkat kepekaan dari zat uji yang diteliti. Berdasarkan hasil pengukuran rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada kontrol kerja dengan *Ciprofloxacin* adalah 33,5 mm. Dalam tabel *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) *Ciprofloxacin* dikatakan sensitif apabila diameter zona hambatnya  $\geq 31$  mm, jika diameter zona hambat yang dihasilkan pada kontrol kerja tersebut dibandingkan dengan tabel CLSI maka kontrol kerja ini termasuk dalam kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Ciprofloxacin*

merupakan agen dalam kelompok kuinolon yang paling aktif terhadap gram negatif, khususnya *Pseudomonas aeruginosa* tetapi terbatas aktivitasnya terhadap organisme gram positif<sup>6</sup>.

### **Diameter zona hambat kontrol negatif etanol 96%**

Pemeriksaan pada kontrol negatif bertujuan untuk melihat ada tidaknya pengaruh pelarut yang digunakan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak akar encok. Hasil pengukuran pada kontrol negatif adalah 0,0 mm yang artinya tidak adanya zona hambat. Nilai nol tersebut menandakan kontrol yang digunakan sebagai pelarut tidak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Etanol 96% digunakan dalam proses maserasi serta pengencer pada setiap variasi konsentrasi yang digunakan. Etanol merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan berbagai zat aktif<sup>7</sup>.

### **Diameter zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai konsentrasi**

Pada penelitian ini, didapatkan hasil ekstrak etanol akar encok dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar

cakram. Rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada ekstrak etanol akar encok konsentrasi 20%, 35%, 50%, 65% dan 80% berturut-turut sebesar yaitu 10,5 mm, 11,7 mm, 11,8 mm, 12,3 mm, dan 15,3 mm. Peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk disebabkan oleh semakin besar konsentrasi ekstrak etanol akar encok, maka semakin pekat larutan tersebut dan semakin banyak pula zat-zat antimikroba yang terdapat didalamnya. Apabila zat antimikroba semakin besar pada ekstrak, maka semakin banyak pula bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dapat dirusak, baik itu struktur tubuh maupun sistem metabolismenya, sehingga bakteri dapat dihambat pertumbuhannya<sup>8</sup>.

Berdasarkan penelitian<sup>9</sup> menyatakan bahwa ekstrak akar encok terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% berturut-turut didapatkan hasil diameter zona hambat sebesar 16 mm, 20 mm, 22 mm, 23 mm, dan 23 mm.

### **Perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan ekstrak etanol akar encok pada berbagai konsentrasi**

Kelima konsentrasi yang dipilih pada penelitian ini yaitu konsentrasi 20%, 35%, 50%, 65% dan 80% masing-masing memiliki diameter zona hambat yang

berbeda-beda. Hasil yang didapat berdasarkan rerata hasil dari pengulangan sebanyak empat kali, konsentrasi 20% merupakan konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Konsentrasi 80% merupakan konsentrasi tertinggi yang dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Terbentuknya zona bening disekitar pertumbuhan bakteri menunjukkan adanya kerja senyawa aktif dalam menghambat ataupun membunuh mikroorganisme tersebut. Adanya kandungan senyawa aktif pada ekstrak yang berdifusi mengakibatkan bakteri tidak mampu tumbuh pada jarak tertentu sehingga pada media terlihat zona bening dengan ditandai tidak adanya pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Rerata diameter zona hambat ekstrak akar encok memiliki nilai terbesar yaitu 15,3 mm, dan nilai terkecil 10,5 mm. Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak akar encok, maka semakin besar diameter zona hambatnya. Hal tersebut dikarenakan semakin tinggi konsentrasinya, kandungan zat aktif sebagai penghambat bakteri juga semakin banyak.

Diameter zona hambat yang terbentuk pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol akar encok dipengaruhi oleh kandungan zat aktif yang ada didalamnya. Perbedaan diameter zona hambat

pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* yang terbentuk diakibatkan adanya pengenceran disetiap serinya. Semakin tinggi pengenceran, maka semakin sedikit kandungan senyawa aktif yang terdapat didalamnya dan semakin kecil diameter yang terbentuk. Sehingga pada konsentrasi 20% diperoleh diameter yang paling kecil jika dibandingkan konsentrasi 35%, 50%, 65% dan 80%. Selain itu, faktor yang dapat menyebabkan perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi yaitu kecepatan berdifusi zat antimikroba ke dalam medium. Kecepatan berdifusi zat antimikroba ini bergantung pada proses pengenceran yang berdampak pada tingkat homogen pelarut dengan zat uji<sup>10</sup>.

### **Mengategorikan aktivitas antibakteri ekstrak etanol akar encok terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa***

Diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak akar encok terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dapat dikategorikan. Menurut<sup>11</sup> kategori zona hambat dapat diklasifikasikan lemah dengan diameter zona hambat  $\leq 5$  mm, sedang dengan diameter 6-10 mm, kuat dengan diameter 11-20 mm dan sangat kuat dengan diameter  $\geq 21$  mm. Dilihat dari hasil pengukuran diameter zona hambat yang didapatkan pada konsentrasi

20% menunjukkan kategori daya hambat sedang, sedangkan konsentrasi 35%, 50%, 65% dan 80% menunjukkan kategori daya hambat kuat. Daya hambat kuat ini berarti zat yang terdapat pada bahan uji dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan skala yang cukup besar.

## KESIMPULAN

Diameter zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 20%, 35%, 50%, 65% dan 80% berturut-turut adalah 10,5 mm, 11,7 mm, 11,8 mm, 12,3 mm dan 15,3 mm. Terdapat perbedaan diameter zona hambat pada ekstrak etanol akar encok (*Plumbago zeylanica* L.) konsentrasi 20%, 35%, 50%, 65%, dan 80% terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Konsentrasi 20% memiliki daya hambat sedang dan konsentrasi 35%, 50%, 65% dan 80% memiliki daya hambat kuat.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Gunardi, Wani Devita. 2011. 'Mekanisme Biomolekuler *Pseudomonas Aeruginosa* Dalam Pembentukan Biofilm Dan Sifat Resistensi Terhadap Antibiotika Wani Devita Gunardi Staf Pengajar Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana', Jakarta. Available at: <http://docplayer.info/48480707-Mekanisme-biomolekuler-pseudomonas-aeruginosa-dalam-pembentukan-biofilm-dan-sifat-resistensi-terhadap-antibiotika.html>
2. Syafada dan Fenty. 2013. 'Pola Kuman dan Sensitivitas Antimikroba Pada Infeksi Saluran Kemih, Farmasi Sains dan Komunitas', 10(1), pp. 9–13. Tersedia di: [https://repository.usd.ac.id/11494/2/088114111\\_Syafada.pdf](https://repository.usd.ac.id/11494/2/088114111_Syafada.pdf). diakses pada tanggal 14 November 2018
3. Diantini, A. 2010. 'The Antibacterial Activity Of Dental And Mouth Disease Compounds From Ki Encok Plant (*Plumbago Zeylanica*)'. Available at: <http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2018/08/Abstrak-Senyawa-Hasil-Isolasi-Dari-Tumbuhan-Ki-Encok-Plumbago-Zeylanica.pdf> Diakses tanggal 19 Desember 2018
4. Jain, Paras, et al., 2013. 'Pharmacological Profiles of Ethno-Medicinal Plant: *Plumbago zeylanica* l.-A Review', Ranchi: Laboratory of Plant Phyciology and Biotechnology, Univercity Departement of Botany.
5. Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Edisi Revisi, Cetakan kedua, Jakarta, PT. Rineka Cipta
6. Jain, Paras, et al., 2013. 'Pharmacological Profiles of Ethno-Medicinal Plant: *Plumbago zeylanica* l.-A Review', Ranchi: Laboratory of Plant Phyciology and Biotechnology, Univercity Departement of Botany.
7. Marjoni, R. 2016. 'Dasar-Dasar Fitokimia untuk Diploma III Farmasi'. Jakarta: Cv.Trans Info Media.
8. Poeloengan, Masniari. 2009. 'Aktivitas Air Perasan Dan Ekstrak Etanol Daun Encok Terhadap Bakteri Yang Diisolasi



- Dari Sapi Mastitis Subklinis*'. Tersedia: <http://peternakan.litbang.pertanian.go.id/-fullteks/semnas/pro09-43.pdf>. Diakses pada tanggal 24 April 2019
9. Virgianti, D. P. dan D. M., Purwati. 2015. '*Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus pyogenes secara In Vitro*'. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 13, pp. 213–227. tersedia di [http://ejurnal.stikes-bth.ac.id/index.php/P3M\\_JKBTH/article/view/7/7](http://ejurnal.stikes-bth.ac.id/index.php/P3M_JKBTH/article/view/7/7). diakses tanggal 10 Juni 2018
10. Permadani, I., S., Puguh. dan Sarwiyono. 2014. '*Solvent to Growth of Staphylococcus aureus and Escherichia coli that Caused Mastitis in Dairy Catle, Brawijaya*', pp. 1–13. Tersedia di: <http://fapet.ub.ac.id/wp-content/uploads/2015/01/Daya-Hambat-Ekstrak-Daun-Beluntas-Pluchea-indica-L.-Menggunakan-Pelarut-Etanol-Terhadap-Pertumbuhan-Bakteri-Staphylococcus-Aureus-dan-Escherichia-Coli-Penyebab-Mastitis-Pada-Sapi-Perah.pdf>. diakses pada tanggal 2 Januari 2019